

(第15回) 2019年度・研究助成報告

研究題名	飲食物中の水中油滴型エマルションのデンプン粒子による安定化
研究期間	2019年4月1日～2021年3月31日
研究機関・所属	信州大学・繊維学部 マクナミー キャシー エリザベス
研究者名	McNAMEE Cathy Elizabeth

1. 2019 (2020) 年度研究成果の概要

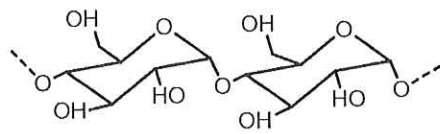
水中油型(O/W)エマルションは、油/水界面へのデンプン粒子吸着により安定化できるが、天然(非修飾)のデンプン粒子は親水性が高いため、気/水界面のような疎水性/親水性界面では3次元凝集体を形成する。本研究では、O/W エマルションのモデル系として、気相と水溶液の界面に形成されるデンプン粒子膜を用い、3次元凝集の軽減方法を検討した。デンプン粒子の糖鎖を飽和脂肪族酸無水物で修飾した修飾デンプン粒子は3次元凝集体の抑制に有効であった。アルキル鎖の導入はデンプン粒子間の立体反発力を増加させ、3次元凝集体形成を抑制すると考えられる。水相への塩添加により3次元凝集体の形成は更に抑制された。これは、修飾デンプン粒子表面近傍に存在する塩イオンが、粒子間に静電反発力をもたらすためと考えられる。

2. 助成期間内での研究成果の概要

1. はじめに

水中油型(O/W)エマルションは、油/水界面へ粒子を吸着させることにより安定化できる[1]。デンプン粒子は食べ物や飲み物に含まれる O/W エマルションを安定化するために広く用いられており[2-4]、多糖が天然由来で安全なこと[5]に加えて、生分解性を有し、豊富に存在するため安価といった利点を有する[6]。天然(非修飾)のデンプン粒子(NRS 粒子)表面は多くの OH 基に由来する高い親水性を示し、気相中や気/水溶液界面で巨大な凝集体を形成する(Fig. 1)。デンプン粒子による O/W エマルションの安定性向上のために、食品工業ではデンプン粒子を化学的に修飾し親水性を低下させる試みが行われている。デンプン粒子の化学修飾は両親媒性の向上[5]やゼラチン化温度の低下[7]といった効果をもたらす事が報告されている。オクテニルコハク酸無水物(OSA)によるデンプン粒子の修飾は、疎水性のみならず、荷電部位も粒子表面に導入しうる手法であり(Fig. 2)、気/水界面におけるデンプン粒子の安定性を向上させることによって凝集を軽減させる。

A. Native starch polymer backbone



B. NRS

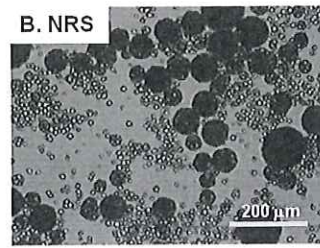
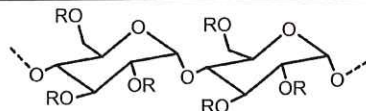


Fig.1.A.非修飾デンプン粒子(NRS)の主鎖構造。 B.NRS 粒子が気/水界面で形成する巨大な凝集体の顕微鏡像。





R = H or  **Hydrophobicity** → stability at air-water interfaces
 **Charged group** → electrostatic repulsions

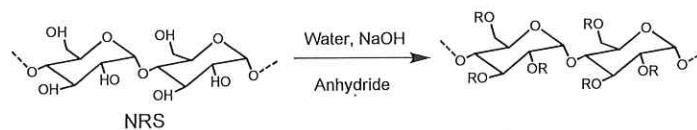
Fig.2.オクテニルコハク酸無水物(OSA)修飾されたデンプン主鎖の模式図。

OSA 修飾がデンプン粒子にもたらす影響に関して、多くの研究が行われている。我々の先行研究では、デンプン粒子が吸着した O/W エマルションのモデル系として、非修飾および OSA 修飾されたデンプン粒子が気/水溶液界面に形成する粒子膜について検討している [8]。OSA 修飾は気/水界面における凝集軽減には有効であるが、その起源が静電反発によるものであるため、塩を含む水溶液においては凝集しやすいことを見出している。

本研究では、静電反発力ではなく、立体反発力を導入することにより、塩を含む水溶液界面においてもデンプン粒子凝集を抑制することを検討した。アルキル鎖長が異なる酢酸無水物(RSA)、プロピオン酸無水物(RSP)、およびブチル酸無水物(RSB)を用いてデンプン粒子を修飾し、異なる立体反発力を有するデンプン粒子を調製した。アルキル鎖長は RSA、RSP、および RSB の順番に長くなり、立体反発力も鎖長に依存して増加すると考えられる。

Native starch polymer backbone

Anhydride substituent esterified to the starch polymer backbone

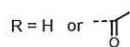


Anhydrides:

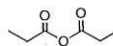
Acetic anhydride



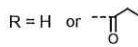
RSA



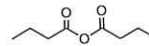
Propionic anhydride



RSP



Butyric anhydride



RSB

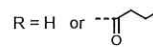


Fig.3.RSA、RSP、および RSB 修飾の模式図。NRS の主鎖を酢酸無水物、プロピオン酸無水物、およびブチル酸無水物を用いて反応させることにより、RSA、RSP、および RSB 修飾を行う。

2. 実験方法

O/W エマルションのモデル系として気/水溶液界面に形成されたデンプン粒子膜を用い、安定性にデンプン粒子の修飾方法が及ぼす影響を評価した。また、デンプン粒子の O/W エマルション安定化能に塩が及ぼす影響は、水相に異なる種類の塩を添加することにより評価した。デンプン粒子は共同研究者(Berthold Wiege, Max Rubner Inst, Detmold, Germany)から提供されたものをそのまま使用した。

気/水界面の粒子膜は以下の方法で調整した。気/水界面に粒子を展開するために用いる展開溶液は、所定量のデンプン粒子を所定体積のエタノールに分散させることにより調製した。所定量の展開溶液を気/水界面に展開した後、10 分間保持し、展開溶媒であるエタノールを蒸発させた。続いて、表面圧を測定しながら粒子膜を圧縮した。粒子 1 個当たりの占有面積は、粒子が展開された水面の面積を粒子数で除することにより算出した。粒子膜が所定の表面圧に到達した後、Langmuir トラフの直上に取り付けられた光学顕微鏡を用いて、気/水溶液界面に形成された粒子膜の観察を行った。

3. 結果及び考察

NRS および修飾済みのデンプン粒子のエタノール分散液を用いて気/水界面に展開し、その形状を顕微鏡で観察し、デンプン粒子の修飾が 3 次元凝集形成に及ぼす影響を評価した (Fig. 4)。RSA、RSP、および RSB のいずれの修飾においてもデンプン粒子間の接着は抑制されており、NRS の場合に観測されているような巨大な 3 次元凝集体の形成は見られない。

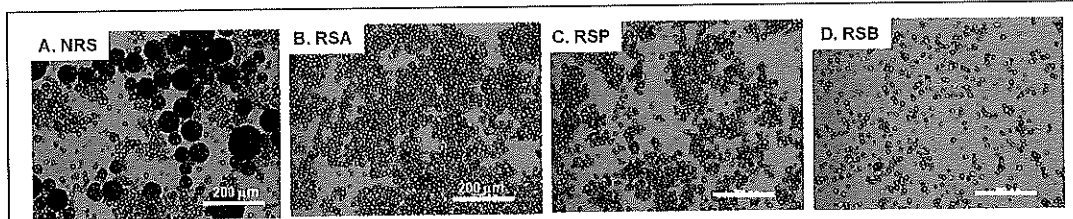


Fig.4.気/水界面における NRS および修飾デンプン粒子の顕微鏡像。

続いて、気/水界面に展開した RSA、RSP および RSB 修飾粒子膜の表面圧 (Π)-占有面積等温測定を行うことにより、アルキル鎖長が粒子膜形成能に及ぼす影響を検討した (Fig.5 実線)。同じ表面圧で比較すると、デンプン粒子 1 個当たりの占有面積は RSA、RSP、および RSB の順番で大きくなった。デンプン粒子 1 個当たりの大きさは、半径を R とすると πR^2 で与えられる。RSA 修飾デンプン粒子膜における粒子 1 個当たりの占有面積は πR^2 に近い値となったが、RSP および RSB 修飾デンプン粒子膜においては、粒子 1 個当たりの占有面積は πR^2 と比較して非常に大きな値となった。この結果から、気/水界面の粒子膜における充填性は RSA が一番高く、RSP、RSB の順番で低下していくことがわかる。

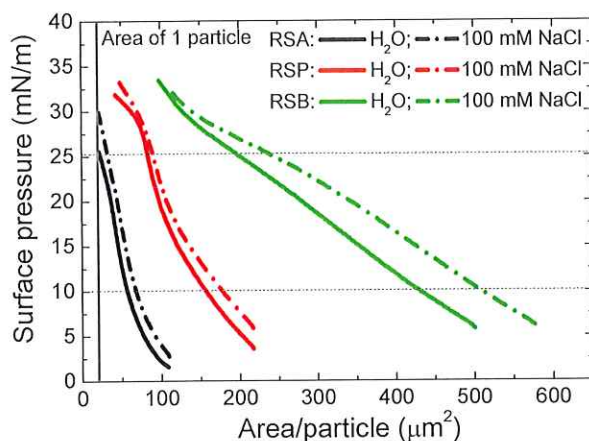


Fig.5. アルキル鎖長、および水相への NaCl 添加が気/水界面の粒子膜形成におよぼす影響。気/水界面(実線)および気/100mM NaCl 水溶液界面(点線)における表面圧-占有面積等温線: RSA(黒色)、RSP(赤色)、および RSB(緑色)。

気/水界面に形成された RSA、RSP および RSB 修飾デンプン粒子の粒子膜を所定の表面圧まで圧縮した後、光学顕微鏡を用いて充填性を観察し、アルキル鎖長の違い、および表面圧が気/水界面の粒子膜の凝集性に与える影響について検討した(Fig.6)。 $\Pi=10$ mN/m (Fig. 6A-C)と $\Pi=25$ mN/m (Fig. 6D-F)を比較すると、表面圧の増加に伴って粒子の充填度が上昇していくことがわかる。また、同じ表面圧で比較した場合、粒子の凝集性は RSA が一番強く、RSP、RSB の順に低下していくことがわかる。このことは、粒子間における反発力が RSA、RSP、および RSB の順、すなわち鎖長に依存して増加していくためと理解することができる。また、粒子の凝集性は RSA が一番強く、RSP、RSB の順に低下していくことは、Fig.5 に示した等温線測定の結果とも一致している。

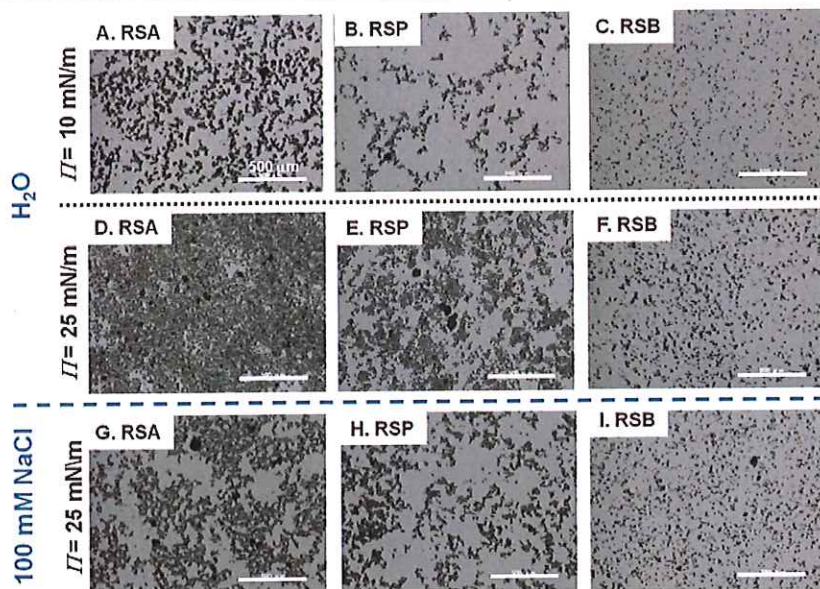


Fig.6. アルキル鎖長、表面圧、および水相への NaCl 添加が気/水溶液界面における粒子膜の凝集性におよぼす影響: 気/水界面(A-F)および気/100mM NaCl 界面(G-I)。RSA 修飾デンプン粒子(A、D および G)、RSP 修飾デンプン粒子(B、E および H)、および RSB 修飾デンプン粒子(C、F および I)の結果。

粒子膜の形成に水相の塩が与える影響について検討するために、気/100mM NaCl 水溶液界面で RSA、RSP および RSB 修飾デンプン粒子膜を形成させた。測定された RSA、RSP および RSB 修飾デンプン粒子膜の等温線も Fig.5 に併せて示す(点線)。気/水界面で測定された等温線(実線)と比較すると、どの粒子種に対しても等温線は大きな占有面積側にシフトしていることがわかる。NaCl の添加は、気/水溶液界面における粒子の充填率を低下させることがわかる。気/100mM NaCl 水溶液界面に形成された粒子膜の $\Pi=25$ mN/m における光学顕微鏡像を Fig.6 G-I に示す。気/水界面で形成される粒子膜(Fig.6 D-F)と比較すると、同一表面圧 ($\Pi=25$ mN/m) であっても気/100mM NaCl 水溶液界面に形成された粒子膜は、粒子種によらず凝集が少ないことがわかる。この結果から、NaCl の存在はデンプン粒子間の反発力を増大させ、気/水溶液界面における凝集を抑制する働きを持つことがわかる。

気/水溶液界面における修飾デンプン粒子の膜形成能に、塩の種類が及ぼす影響を評価するために、異なる種類の塩を添加した水溶液を用いて、RSA 粒子の等温線測定を行った (Fig.7)。同一表面圧で比較した場合、KCl、NaCl、CaCl₂·2H₂O、および MgCl₂·8H₂O の順番で占有面積が大きくなることが分かった。この結果から、RSA 粒子は、K⁺や Na⁺イオンよりも Ca²⁺や Mg²⁺イオンが添加されている場合により高い分散性を示すことがわかる。気/100mM 塩水溶液界面で形成された粒子膜を $\Pi=25$ mN/m まで圧縮した状態で観察した光学顕微鏡像(Fig.8)からも明らかなように、RSA 粒子の凝集状態は塩の種類に依存し、KCl が一番高い凝集性を示し、NaCl、CaCl₂·2H₂O、および MgCl₂·8H₂O の順番で凝集性は減少する。

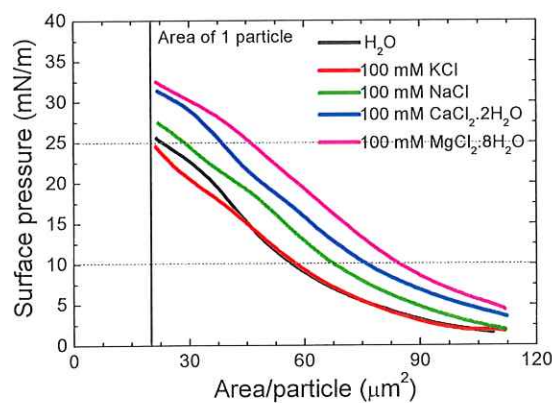


Fig.7.気/100 mM 塩水溶液界面に形成された粒子膜の表面圧-占有面積等温線：水(黒色線)、100 mM KCl(赤色線)、100 mM NaCl(緑色線)、100 mM CaCl₂·2H₂O(青色線)、および 100 mM MgCl₂·8H₂O(桃色線)。

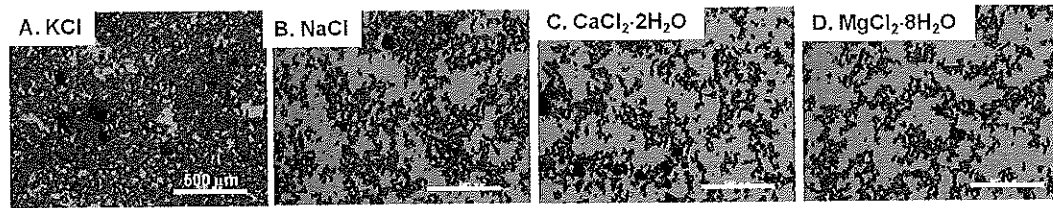


Fig.8. 気/100 mM 塩水溶液界面に形成された RSA 粒子膜の顕微鏡像($\Gamma=25$ mN/m) : 100 mM KCl(A)、100 mM NaCl(B)、100 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (C)、および 100 mM $\text{MgCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (D)。

特定のイオンが水相に添加された場合、それらが選択的に気/水界面に吸着することにより、気/水界面の荷電状態が変化することが報告されている[9]。MgCl₂の存在下、高い pH では気泡の荷電状態が負から正に変化することが報告されている[10]。この荷電状態の逆転現象は気/水溶液界面への Mg²⁺イオンの特異的な吸着により説明される。表面近傍の水分子間に働く水素結合強度は、水に添加されたイオン種により変動することが報告されている[11]。

K⁺および Cl⁻は structure breaking ion であり、水素結合を弱める。一方、Ca²⁺および Mg²⁺は structure making ion であり、水素結合を強めることが知られている。Na⁺は border-line ion と位置付けられ、K⁺および Cl⁻イオンより水素結合を強めるが、Ca²⁺および Mg²⁺イオンほど強くはできない [12]。Ca²⁺、Mg²⁺および Na⁺イオンは気/水界面近傍の水素結合と相互作用し、気・水界面の電荷にも影響を与える。気/塩水溶液界面には修飾デンプン粒子が存在しているため、水相に添加された Ca²⁺、Mg²⁺および Na⁺イオンは粒子間に存在する気/塩水溶液界面に吸着する。これらのイオンは粒子の見かけの電荷を上昇させ、粒子間の静電反発力を増加させる。結果として、修飾デンプン粒子の凝集が減少し、気/水溶液界面における分散性が向上することになる。

4. 結言

デンプン粒子を飽和脂肪酸無水物で修飾することにより、修飾していないデンプン粒子で見られていた 3 次元凝集を減少させることに成功した。飽和脂肪酸無水物のアルキル鎖長増加は粒子間の立体反発力の増加をもたらし、気/水溶液界面における凝集をより軽減する。水相に塩を添加することにより、凝集をさらに減少させることができる。この現象は、修飾デンプン粒子の近傍に塩のイオンが存在し、それらが粒子間に静電反発力をもたらすことにより説明される。すなわち、酸無水物で修飾したデンプン粒子においては、塩の存在下であっても粒子間の反発力の存在により、気/水溶液界面で安定した分散状態を示すことが可能である。しかしながら、これらの反発力は充填度が高い粒子膜では抑制されると考えられる。そのため、充填度の高い粒子膜が必要とされる場合は、粒子が機械的に圧縮される、あるいは粒子間に適度な引力相互作用をもたらす物質の添加が必要になるとと思われる。

5. 參考論文

- [1] Pickering, S. U. *J. Chem. Soc.* **1907**, 91, 2001 -2021.
- [2] Marefati, A.; Wiege, B.; Haase, N. U.; Matos, M.; Rayner, M. *Carbohydr. Polym.* **2017**, 175, 473-483.
- [3] Song, X.; Pei, Y.; Zhu, W.; Fu, D.; Ren, H. *Food Chem.* **2014**, 153, 74-80.
- [4] Li, C.; Li, Y.; Sun, P.; Yang, C. *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.* **2013**, 431, 142-149.
- [5] Sweedman, M.C.; Tizzotti, M.J.; Schäfer, C.; Gilbert, R.G. *Carbohydr. Polym.* **2013**, 92, 905-920.
- [6] Hui, R.; Qi-he, C.; Ming-liang, F.; Guo-qing, H. *Food Chem.* **2009**, 114, 81-86.
- [7] Ovando-Martinez, M.; Whitney, K.; Ozsisli, B.; Simsek, S. *J. Food Process Preserv.* **2017**, 41, 1745-4549.
- [8] McNamee, C.E.; Sato, Y.; Wiege, B.; Furikado, I.; Marefati, A.; Nylander, T.; Kappl, M.; Rayner, M. *Frontiers in Chemistry* **2018**, 6, article number: 139.
- [9] Gu, Y.; Li, D. *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.* **1998**, 137, 205-215.
- [10] Li, C.; Somasundaran, P. *J. Colloid Interface Sci.* **1991**, 146, 215-218.
- [11] Nockolov, Z.S.; Miller, J.D. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, 287, 572-580.
- [12] Marcus, Y. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 1346-1370.

3. 研究発表

1. 論文

Cathy E. McNamee, Yu Sato, Wiege, B. "Decrease in the aggregation of starch particles at air-aqueous interfaces via steric and electrostatic repulsions", To be Submitted.

2. 学会発表

(i). 2019/4/9-2019/4/10: 70th Starch Convention, Detmold, Germany.

標題: "Physical properties of films of starch particles at air/aqueous interfaces"

講演者: Cathy E. McNamee

講演番号: 4.3

(ii) 2019/11/3-2019/11/8: Okinawa Colloids 2019, BankokuShinryokan& The Busena Terrace, Okinawa, Japan.

標題: "Ways to change the physical properties of films of particles formed at air-aqueous interfaces"

講演者: Cathy E. McNamee

講演番号: 5D12